

## ОСОБЕННОСТИ ХИМИЧЕСКОГО И АМИНОКИСЛОТНОГО СОСТАВОВ В ХОЛЕЛИТАХ

Машина Е.В., Амосова О.Е., Шанина С.Н.

ИГ Коми НЦ УрО РАН, г. Сыктывкар, borovkova@geo.komisc.ru

Изучение механизмов патогенного минералообразования в организме человека является одной из актуальных задач. Считается, что холелитиаз может возникать на фоне повышения концентраций тех или иных элементов и содержания белка в желчи [Галеев, Тимербулатов, 1997; Keulemans et al., 1998; Chandran et al., 2007; Запруднов, Царькова, Харитонов, 2010], тем не менее, данный аспект изучен недостаточно и требует дальнейшего исследования.

Целью настоящего исследования являлось изучение элементного и аминокислотного составов холелитов трех типов: 1 – холестериновые (5 образцов), 2 – смешанные (холестерин+минеральная компонента (карбонат кальция, фосфат кальция)) (6 образцов), 3 – пигментные (4 образца). В качестве методов исследования использовались масс-спектральный и атомно-эмиссионный (Elan-6100, Optima-4300 DV). Идентификация и определение содержания аминокислот в образцах выполнены на газовом хроматографе GC-17A (Shimadzu). Обработка полученных данных проводилась методами статистического анализа. Для выявления различий аминокислотного и химического составов разных типов холелитов применяли непараметрический критерий Манна-Уитни. Для выявления силы и направления взаимосвязи между содержаниями элементов и аминокислот использовался корреляционный анализ. Для вычислений использовалась программа Statistica 6.0.

Установлено, что основными элементами, присутствующими в холелитах, являются кальций, натрий, калий, магний, железо, марганец, медь, титан, цинк, стронций, свинец, кобальт, их содержания в образцах составляют более  $10^{-4}$  масс.%. Известно, что кальций, натрий, калий, магний, железо, марганец, медь и кобальт являются жизненно необходимыми, и изучение изменений их содержания в живых организмах представляет собой одну из главнейших задач [Авцын и др., 1991]. В отличие от холестериновых (тип 1) в холелитах с минеральной составляющей (тип 2) содержания кальция, магния и марганца выше. Повышение содержания кальция в образцах типа 2 объясняется присутствием кальцийсодержащих минералов (карбонат кальция, фосфат кальция). По данным корреляционного анализа наблюдается сильная прямая связь между кальцием и марганцем ( $r=0.79$ ). Пигментные холелиты (тип 3) отличаются от холестериновых холелитов (типы 1 и

2) содержаниями натрия, цинка, меди, железа, таллия и молибдена. Причем наиболее сильное различие наблюдается по содержаниям меди и железа (рис. 1). В результате корреляционного анализа установлена сильная прямая связь между данными элементами ( $r=0.93$ ). Высокие содержания меди и железа в пигментных холелитах были отмечены также в работе [Царькова, 2004; Omer, 2011]. Предполагается, что кристаллизация пигментных желчных камней обусловлена полимеризацией радикала билирубина в комплексе с различными металлическими ионами, в том числе и медью. При образовании металлокомплекса два иона меди связываются с азотом двух пиррольных колец билирубина, а также медь может дополнительно взаимодействовать с карбоксильными группами билирубина [Asada et al., 2001]. Концентрации кобальта, никеля, галлия, лантана, титана, хрома, иттрия, церия и олова в образцах холелитов не зависят от их типа и имеют примерно одинаковые значения (не различаются статистически значимо для заданного критического уровня значимости  $p=0.05$ ). При попарном сравнении всех трех типов образцов холелитов (холестериновых со смешанными, холестериновых с пигментными, смешанных с пигментными) с помощью критерия Манна-Уитни (с использованием скорректированного критического уровня значимости  $p=0.017$ ) было установлено, что по содержанию кальция статистически значимо различаются образцы типов 1 и 2, 1 и 3. По содержаниям натрия, меди, железа, таллия и молибдена статистически значимо различаются только холелиты типов 1 и 3. По содержанию натрия, калия, меди, таллия и молибдена статистически значимо различаются только образцы типов 2 и 3.

Аминокислотный состав холелитов представлен 13 аминокислотами (аланин, валин, треонин, глицин, изолейцин, лейцин, пролин, серин, фенилаланин, тирозин, лизин, глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота). Пигментные холелиты значительно отличаются от холелитов типов 1 и 2 высокими относительными содержаниями аланина, изолейцина, лейцина, пролина, фенилаланина, аспарагиновой и глутаминовой аминокислот. В результате корреляционного анализа в пигментных камнях установлены тесные связи между содержанием меди и всеми аминокислотами за исключением тирозина и железом и глицином ( $r=0.91$ ). В холелитах с минеральной составляющей

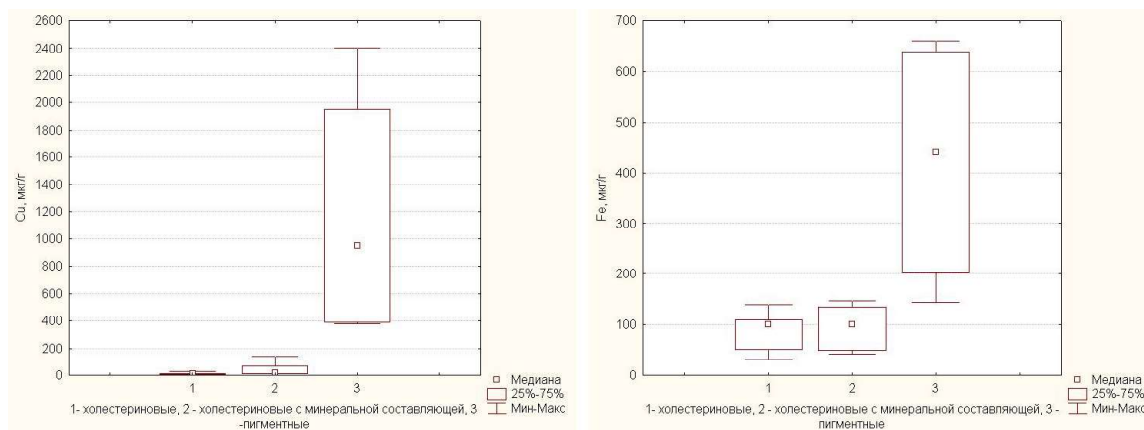


Рис. 1. Содержания меди и железа в холелитах

(тип 2) содержания аминокислот выше по сравнению с холестериновыми камнями типа 1. Образцы типа 1 отличаются от образцов типов 2 и 3 относительно низкими содержаниями аланина, глицина, пролина, лейцина, фенилаланина, аспарагиновой и глутаминовой аминокислот. В результате корреляционного анализа в холелитах типа 1 наблюдаются статистически значимые высокие значения коэффициентов корреляции между суммой аминокислот и содержаниями серина ( $r=0.94$ ) и аланина ( $r=0.79$ ). Критерием Манна-Уитни установлено, что холелиты типов 1 и 2 статистически значимо различаются по содержанию аланина, валина, глицина, лейцина, пролина, фенилаланина, аспарагиновой и глутаминовой аминокислот. Пигментные камни характеризуются высокими содержаниями всех аминокислот, кроме валина и тирозина по сравнению с холестериновыми образцами типа 1. Холелиты типов 2 и 3 статистически значимо различаются по относительным содержаниям аланина, изолейцина, лейцина, фенилаланина, аспарагиновой и глутаминовой аминокислот.

Таким образом, проведенные исследования позволили установить значимые отличия химического и аминокислотного состава в трех изученных типах холелитов. С помощью критерия Манна-Уитни установлено, что все три типа холелитов попарно различаются по относительному содержанию аланина, лейцина, фенилаланина, аспарагиновой и глутаминовой аминокислот. Выявлено, что ни по одному химическому элементу все три типа холелитов (для критического уровня значимости 0.017) попарно не различаются. По результатам статистического анализа установлено, что холестериновые холелиты отличаются от холестериновых холелитов с минеральной составляющей (фосфатной, карбонатной) по содержанию кальция, аминокислот - аланина, валина, глицина, лейцина, пролина, фенилаланина, аспарагиновой и глутаминовой аминокислот. Значительные содер-

жания железа и меди и выявленная сильная прямая связь между ними в пигментных камнях в отличие от холестериновых указывает на то, что зарождение данного типа холелитов, а следовательно и растворимость билирубина в желчи связаны с нарушением обмена этих двух элементов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология – М.: Медицина, 1991. 496 с.
2. Галеев М.А., Тимербулатов В.М. Желчнокаменная болезнь и холецистит. – Уфа: БГМУ, 1997. 219 с.
3. Запруднов А.М., Царькова О.Н., Харитонов Л.А. Клинико-патогенетическое значение билиарного сладжа как начальной стадии желчнокаменной болезни в детском возрасте // Педиатрия. 2010. Т. 89. № 2. С. 40-45.
4. Царькова О.Н. Течение и исходы желчнокаменной болезни у детей // автореф. дис. ... канд. мед. наук. Москва, 2004. 24 с.
5. Asada S., Singh S., Ahmad A., Khan N., Hadi S. Prooxidant and antioxidant activities of bilirubin and its metabolic precursor biliverdin: a structure-activity study // Chemico-Biological Interactions. 2001. Vol. 137 P. 59-74.
6. Chandran P., Kuchhal N.K., Garg P., Pundir C.S. An extended chemical analysis of gallstone // Indian J. Clin Biochem. 2007. V. 22(2). P. 145-150.
7. Keulemans Y.C., Mok K.S., Wit L.T., Gouma D.J., Groen A.K. Hepatic bile versus gallbladder bile: a comparison of protein and lipid concentration and composition in cholesterol gallstone patients // J. Hepatology. 1998. V. 28. P. 11-6.
8. Omer L.S. Quantitative analysis in (33) traces metals in human gallstones by ICP-AES // International Journal of Chemistry, 2011. Vol. 3. № 2. Pp. 105-110.